Die Atmung von Chlorella im Verlauf der Zellentwicklung

---

von

Gerhard Wolf

Göttingen 1964

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544314_0013

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut
der Universität Göttingen

DIE ATMUNG VON CHLORELLA IM VERLAUF DER ZELLENTWICKLUNG

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Georg-August-Universität in Göttingen

vorgelegt von

Gerhard Wolf
aus Kleinern

Göttingen 1964

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

D 7

Referent : Professor Dr. A. Pirson
Korreferent: Professor Dr. A. Trebst
Tag der mündlichen Prüfung: 31.7.1964

Inhalt

		Seite
A.	Einleitung	1
B.	Methodik	
	I. Algenanzucht	3
	II. Bestimmungsmethoden	4
C.	Experimenteller Teil	
	I. Verlauf der endogenen Atmung	
	1. Gesamtkurve	10
	2. Erstes Maximum	11
	3. Zweites Maximum	13
	II. Gesamtkohlenhydrat und seine Fraktionen	15
	III. Glucose-Atmung	16
	IV. Kohlenhydratspeicherung bei Ernährung mit Glucose	18
	V. Glucose-Aufnahme	19
	VI. Veränderungen des O_2-Verbrauchs von Zellen verschiedener Entwicklungsstadien innerhalb der ersten Stunde nach Entnahme aus der Kultur	20
D.	Diskussion	22
E.	Zusammenfassung	27
F.	Literaturverzeichnis	I

A. EINLEITUNG

Bei der Dunkelatmung von einzelligen Grünalgen wird gewöhnlich zwischen einem endogenen und einem exogenen Reaktionsverlauf unterschieden (EMERSON 1927, GENEVOIS 1927). Im ersten Fall sind die in der Photosynthese produzierten Kohlenhydrate das einzige Substrat des oxydativen Abbaus, während sich im anderen Fall die Atmung ausschließlich oder vorwiegend eines von außen gebotenen Substrats (meist Glucose) bedient.

Die exogene Atmung ist gegenüber der endogenen durch höhere Empfindlichkeit gegenüber Stoffwechselgiften gekennzeichnet (EMERSON 1927, GENEVOIS 1927, WATANABE 1932), doch dürfte dieser Unterschied keine grundlegend verschiedenen Wege im biochemischen Abbau anzeigen; vielmehr ist anzunehmen, daß hierbei die Empfindlichkeit der Aufnahme-Mechanismen für das organische Material verantwortlich zu machen ist (TAYLOR 1960).

Die im allgemeinen wesentlich höhere exogene Atmung zeigt, sofern nicht die Aufnahme des Substrats gehemmt ist, die maximale Kapazität des respiratorischen Enzymsystems an.

Seit Einführung verschiedener Synchronisationsmethoden ist bekannt, daß die Höhe des O_2-Verbrauchs vom Entwicklungszustand der Einzelzelle in starkem Maße mitbestimmt wird (NIHEI et al. 1954, SOROKON u. MYERS 1957); allerdings muß auch damit gerechnet werden, daß die synchronisierende Behandlung selbst die Atmung beträchtlich beeinflußt.

Für die im hiesigen Institut verwendete Methode der Synchronisierung durch regelmäßigen Licht-Dunkel-Wechsel bei konstant gehaltener Zellzahl (LORENZEN 1957) liegen bereits Atmungsmessungen vor (RIED, SOEDER u. MÜLLER 1963). Eine zusätzliche Untersuchung der Atmung erschien jedoch wünschenswert, da Messungen des respiratorischen Gaswechsels allein für eine Kausalanalyse von Atmungsschwankungen nicht ausreichen. Die analytische Erfassung veratembarer und nicht veratembarer Kohlenhydrate, sowie der Speicherung und Aufnahme sind nötig, um das Verhalten der Atmung aus der Gesamtsituation des Kohlenhydrat-Umsatzes heraus zu verstehen.

B. METHODIK

I. Algenanzucht

Versuchsobjekt war Chlorella pyrenoidosa CHICK, Nr. 211/8b der Algensammlung des Pflanzenphysiologischen Instituts Göttingen.

Als Impfmaterial dienten Stammkulturen, die in Reagenzgläsern mit Bactopepton-Nährlösung oder auf Schrägagar bei Tageslicht und Zimmertemperatur gewachsen waren. Die Anzucht erfolgte in Kulturröhren aus Jenaer Glas, die mit je 300 ml einer bei KUHL (1962) angegebenen Nährlösung gefüllt waren.

Sie befanden sich in einem Lichtthermostaten (vgl. LORENZEN 1959) bei einer Temperatur von $30^{\circ}C$ und wurden laufend von einem CO_2-Luftgemisch (ca. 1,5 Vol.-% CO_2) durchströmt. Als Lichtquelle dienten 5 Leuchtstoffröhren (3 Philips Warmton de luxe und 2 Philips Tageslicht, je 40 Watt), deren Mischlicht auf 9000 Lux eingestellt war.

Mit Hilfe eines Licht-Dunkel-Wechsels von 16 : $\overline{12}$ Stunden bei einer Verdünnung der Zellsuspension jeweils zu Beginn der Lichtzeit auf die relative Zellzahl 100 (= $1{,}56\ 10^6$ Zellen / ml Suspension) wurde Vollsynchronisation erreicht.

Wechsellicht-Anzuchten, die im Übergang zu Dauerlichtbedingungen untersucht werden sollten, wurden von der 16. Stunde an in Abständen von zwei Stunden auf die optische Dichte E = 0,75

(1 cm Glas-Küvetten) bei 1000 nm verdünnt.

Die sterile Anzucht der mit Glucose (1 %) ernährten Kulturen erfolgte in einem bei ULRICH (1963) beschriebenen Röhrentyp.

II. BESTIMMUNGSMETHODEN

1. Gaswechselmessungen

Die Atmung wurde über den O_2-Verbrauch nach der Methode von TÖDT (1958) bestimmt.

Diese elektrochemische Methode erwies sich der manometrischen für unsere Zwecke aus mehreren Gründen überlegen: Sie gestattet eine Messung direkt in der zu untersuchenden Algensuspension und erübrigt damit das Konzentrieren der Suspension, wie es in unserem Fall für manometrische Versuche nötig war. Außerdem wird der Zeitverlust vom Entnehmen der Probe bis zum Beginn der Messung, den die manometrische Methode mit sich bringt, vermieden. Dieser Vorteil ist beim Arbeiten mit den sich schnell entwickelnden Zellen einer Synchron-Kultur von großer Bedeutung. (siehe S. 11)

Die höhere Empfindlichkeit der TÖDT-Methode macht es zudem möglich, die Messungen in kürzeren Zeitabständen vorzunehmen.

Apparatur

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir eine Apparatur der Fa. Dr.THIEDIG & Co., Berlin, bestehend aus: (Abb. 1)

a. Meßgefäß (60 ml Inhalt)

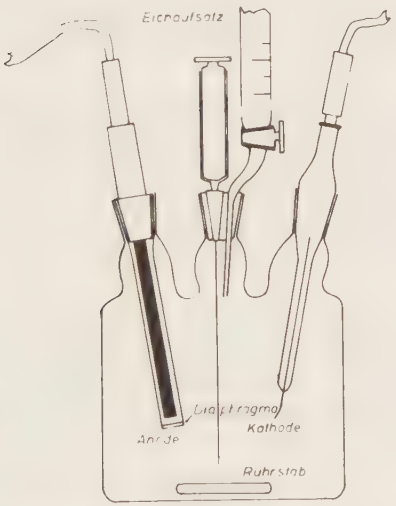
b. Goldamalgam-Kathode

c. Zink-Anode (in einem Glasrohr mit Diaphragma, gefüllt mit ges. KCl-Lösung)

d. Wanne mit Halterung für das Gefäß und Magnetrührer

e. Eichaufsatz (bestehend aus einer Bürette und einer Spritze)

f. Mikroamperemeter (mit 5 Meßbereichen von 5-600 µA)



Schematische Darstellung des Messgefäßes

Abb. 1

Meßvorgang

Für die Messung wurde das Gefäß mit Algensuspension gefüllt und anschließend in der Wanne zentrisch über dem Magnetrührer gehaltert. Ein von einem HÖPPLER-Thermostaten kommender Wasserstrom umspülte das Gefäß und sorgte für Temperaturkonstanz bei 30°C. Da wegen der ruhigeren und daher genaueren Anzeige des Amperemeters in Bereichen unterhalb 200 µA gearbeitet wurde, war es notwendig, durch kurzfristiges Einleiten von Stickstoff einen Teil des Sauerstoffs zu entfernen. (Wie DAMASCHKE 1955 zeigte, ist die Atmung bei abnehmender Sauerstoffkonzentration nicht beeinträchtigt.)

Nachdem die Elektroden eingesetzt und das Gefäß luftfrei verschlossen war, wurde der Magnetrührer (Rührgeschwindigkeit 1000 U/min.) eingeschaltet. Die erste Messung begann, nachdem Temperaturkonstanz erreicht war (5 min. nach Einsetzen des Gefäßes).

Die weiteren Messungen wurden in Abständen von jeweils 15 min. (Meßzeit 20 sec.) vorgenommen, da ein Abscheiden von verschiedenen Ionen der Nährlösung (besonders Cu^{++}-Ionen) an der Kathode vermieden werden sollte.

Eichung

Um eine Relation zwischen dem auf dem Mikroamperemeter angezeigten Strom und den in der Suspension gelösten Sauerstoff zu erhalten, wurde eine Eichung durchgeführt. Dies geschah durch Zugabe einer Lösung, deren Sauerstoffgehalt mit Hilfe der WINKLER-Methode bestimmt war. Sie wurde mit einer Spritze über den Eich-

aufsatz in die durch Einleiten von Stickstoff sauerstoffrei gemachte Meßlösung gegeben. Auf Grund des Stromzuwachses am Amperemeter wurde der Eichwert errechnet.

2. Zellzählung

Die relative Zellzahl 100 = 1,56 · 10^6 Zellen im ml Algensuspension wurde mit einer Zählkammer nach THOMA (neu) bestimmt.

3. Trockengewichtsbestimmung

Zur Trockengewichtsbestimmung verwendeten wir Aluminiumtiegel, die bis zur Gewichtskonstanz mit Aqua dest. vorbehandelt worden waren (vgl. KOWALLIK 1962). Die Algenproben (je nach Suspensionsdichte 10-30 ml) wurden nach einmaligem Waschen in die Tiegel gespült und anschließend bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und nach Abkühlen im Exsiccator ausgewogen.

4. Gesamt-Kohlenhydrat

Der Kohlenhydratgehalt wurde mit Hilfe der Anthron-Methode nach ROE (1955) ermittelt.

5. Gesamt-Stickstoff

Die Bestimmung des Gesamtstickstoffs erfolgte mit der Mikrokjeldahl-Methode.

6. Glucose-Bestimmung

Zur Ermittlung des Glucose-Gehaltes der Nährlösung benutzten wir eine enzymatische Bestimmung nach BÖHRINGER Vorschriften in Anlehnung an Angaben von HUGGET u. NIXON (1957).

7. Stärke-Bestimmung

Für die Analysen wurden je nach Zellalter 80-700 ml der Algensuspension abzentrifugiert, mit 20 ml eines 0,02 molaren Acetat-Puffers (p_H 4,7) aufgenommen und in einer Stahlflasche (Inhalt 80 ml) mit Glaskugeln Ø 0,5 mm unter Kühlung in einem Homogenisator (Fa. BRAUN, Melsungen) zertrümmert. (Dauer 2 1/2 min.) Über eine Fritte (11 Gl Schott) wurde das Homogenat von den Kugeln befreit und mit Puffer ad 40 ml aufgefüllt. In 1 ml dieser Suspension bestimmten wir das Gesamtkohlenhydrat. Nach Zentrifugation des Homogenats in einer Kühlzentrifuge bei 40 000 g und 0°C wurden im Überstand die löslichen Kohlenhydrate, im Rückstand nach Waschen der Stärkegehalt ermittelt. Hierzu verwendeten wir eine 1%ige Diastase-Lösung (Diastase, hochgereinigt, Merck), die zuvor durch zweimalige Ammoniumchloridfällung gereinigt worden war.

2 ml der Suspension wurden mit 2 ml der Enzym-Lösung versetzt und 4 Stunden lang auf 40°C erwärmt. Durch Zugabe von 1 ml Trichloressigsäure (Endkonz. 5%) wurde die Enzymeinwirkung unterbrochen. Nach Zentrifugation (15 min. bei 40 000 g) wurde im Überstand die Menge der beim Stärke-Abbau entstandenen Spaltprodukte festgestellt. Alle Bestimmungen wurden mit der Anthron-Methode nach ROE (1955) durchgeführt.

8. Papierchromatographische Trennungen

Zur Analyse der löslichen Kohlenhydrat-Fraktion wurden 1000 bzw. 1500 ml der Algensuspension auf 20 ml konzentriert und im Homogenisator unter starker Kühlung zertrümmert (siehe oben).

Nach Zugabe von wenig konz. HCl (2 Tropfen auf 20 ml) erhielten wir durch Zentrifugation bei $0^{o}C$ und 40 000 g einen klaren Überstand, der durch Vakuum-Destillation bei 50-$60^{o}C$ eingeengt und anschließend aufgetragen wurde. (Die Bestimmung der Zuckerphosphate wurde mit dem Rohextrakt durchgeführt.)

Die Spaltung der Polysaccharide erfolgte durch Hydrolyse mit 4 n HCl bei $80^{o}C$ bzw. $100^{o}C$ (2 Std.). Die Salzsäure ließ sich durch mehrmaliges Eindampfen (Vakuum-Destillation) entfernen. Zur Ermittlung der freien Zucker wurde absteigend mit n- Butanol : Pyridin : Wasser (6 : 4 : 3) und Athylacetat : Pyridin : Wasser (5 : 3 : 2) entwickelt. Eine Trennung von evtl. vorhandenen Zuckerphosphaten sollte im Durchlauf-Chromatogramm (72 Std.) mit wassergesättigtem Phenol als Lösungsmittel erreicht werden.

Der Nachweis der freien Zucker erfolgte mit Anilinphtalat (siehe LINSKENS 1955); Glucose wurde zusätzlich mit der oben angegebenen enzymatischen Methode (BÖHRINGER Vorschrift in Anlehnung an Angaben von HUGGET u. NIXON 1957) bestimmt. Zuckerphosphate wurden nach der Methode von HANES u. ISHERWOOD (1949) identifiziert. Als Chromatographie-Papier wurde ausschließlich SCHLEICHER & SCHÜLL 2043 b Mgl. verwendet.

9. Enzymatische Bestimmung der Adenin-Nucleotide

Die Bestimmung von AMP, ADP und ATP erfolgte nach BÖHRINGER Vorschriften (TC-J Nr. 15979 und TC-K Nr. 15980) in Anlehnung an Angaben von LIPMAN, F.: Advances in Enzymology 1, 99 (1941), sowie BÜCHER, Th.: Advances in Enzymology 14,1 (1953) und BÜCHER und SCHUART (unveröffentlicht).

C. EXPERIMENTELLER TEIL

I. Verlauf der endogenen Atmung

1. Gesamtkurve

Die auf Stickstoff bezogene, endogene Atmung einer Synchronkultur von Chlorella ist im Laufe der Zellentwicklung charakteristischen Schwankungen unterworfen (Abb. 2). Im Stadium der Autosporen - von ihrer Freisetzung (21.-25. Stunde) bis zum Beginn der Lichtzeit (0. Stunde) - haben die Zellen den niedrigsten O_2-Verbrauch. Nach Belichtungsbeginn steigt die Atmung zu einem ausgeprägten Maximum (1.-5. Stunde) an. Dem anschließenden Abfall bis zur 11. Stunde folgt ein zweites Maximum am Ende der Lichtzeit. Wenn auch danach ein geringer Abfall der Atmung festzustellen ist, so ist der O_2-Verbrauch dennoch relativ hoch; schließlich tritt ein starker Rückgang ein, wenn die Autosporenfreisetzung einsetzt.

Wie aus Abb. 3 zu erkennen ist, zeigt die auf Trockengewicht bezogene Atmung des gleichen Verlauf. Ein Unterschied besteht nur insofern, als das zweite Maximum vier Stunden später auftritt. Diese zeitliche Verschiebung des zweiten Maximums läßt sich auf das unterschiedliche Verhalten der Bezugsgrößen zurückführen. Der starke Kohlenhydratschwund nach Beginn der Dunkelzeit (Abb. 4) bedingt den Anstieg der auf Trockengewicht bezogenen Atmung und täuscht auf diese Weise ein Maximum vor.

Diese Ergebnisse stimmen mit entsprechenden Angaben von RIED, SOEDER u. MÜLLER (1963) im ganzen überein. Auch ihr Kurvenverlauf zeigt

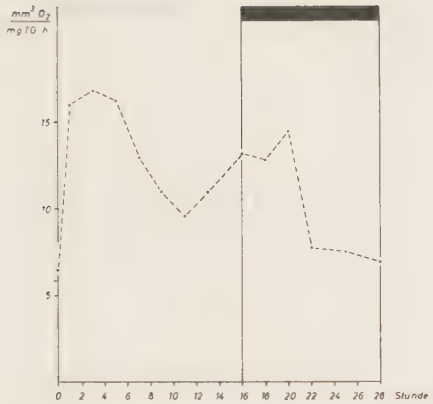


Abb. 2

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b) (Licht-Dunkel-Wechsel 16: $\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

O_2-Verbrauch (mm^3) bezogen auf Gesamtstickstoff (mg), von Zellen verschiedener Entwicklungsstadien einer autotrophen Kultur nach einstündiger Messung im Dunkeln.

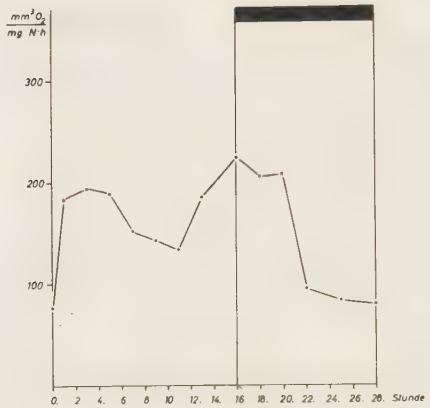


Abb. 3

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b) (Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

O_2-Verbrauch (mm^3) bezogen auf Trockengewicht (mg), von Zellen verschiedener Entwicklungsstadien einer autotrophen Kultur nach einstündiger Messung im Dunkeln.

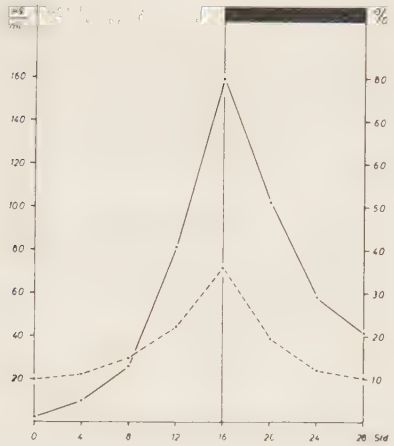


Abb. 4

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b) (Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

Gesamtkohlenhydrat (µg/ml Zellsuspension) einer autotrophen Kultur und dessen prozentualer Anteil am Trockengewicht

—— • —— • —— Gesamtkohlenhydrat

- - o - - o - - Anteil des Gesamtkohlenhydrats am Trockengewicht

zwei Maxima und zwei Minima, die jedoch von den unsrigen nach Höhe und Lage etwas abweichen.

Diese Unterschiede lassen sich möglicherweise auf die Verwendung verschiedener Meßmethoden zurückführen. So zeigten vergleichende Versuche mit der manometrischen Methode, daß während der hier unvermeidlich langen Versuchsvorbereitung bereits ein Atmungsabfall auftreten kann. Auf diese Weise ließe sich die schwache Ausbildung des 1. Maximums bei RIED, SOEDER u. MÜLLER (1963) erklären.

Von einem Maximum der Dunkelatmung junger Zellen nach kurzer Entwicklung im Licht berichten auch SOROKIN u. MYERS (1957). In ihren Versuchen fehlt jedoch ein 2. Maximum.

Die Angaben der japanischen Autoren (NIHEI et al. 1954) lassen sich mit unseren Befunden nicht in Einklang bringen. Bei den erheblichen Abweichungen in der Versuchseinstellung ist eine Erklärung solcher Verschiedenheiten kaum möglich, zumal auch die verwendeten Algenstämme differieren können.

2. Das erste Maximum

Es wurde zunächst geprüft, ob eine Steigerung der Dunkelatmung nach Art des beschriebenen ersten Maximums in jedem Entwicklungsstadium durch das Einsetzen einer Belichtung hervorgerufen werden kann. Zu diesem Zwecke wurde das Belichtungsprogramm so abgeändert, daß Zellen der 6. bis 8. Lichtstunde, also in einem Entwicklungszustand, in dem die Zellteilung noch nicht induziert ist (LORENZEN u. RUPPEL 1960), einige Zeit verdunkelt und anschließend jeweils wieder eine Stunde belichtet wurden. Nach verschiedener Länge der eingeschalteten Dunkel-

zeit (7 Std., 10 Std. u. 24 Std.) hatte die neu einsetzende Belichtung, welche also die Zellen in einem späteren, noch nicht teilungsbereiten Entwicklungszustand traf, keinen Einfluß auf die Dunkelatmung. Die Atmungssteigerung durch Licht ist somit auf die jungen Zellen beschränkt.

Wie alle unsere bisherigen Werte, geben auch diejenigen für das erste Maximum nur die Nachwirkung vorausgegangener Belichtung wieder. Solchermaßen gemessene Lichteffekte sind schon verschiedentlich registriert worden (PETERING 1939, MOTHES et al.1939, KANDLER 1950, KOK 1952, BRACKETT et al. 1953, BASSHAM et al. 1955, EMERSON 1957).

Sie wurden entweder auf eine Anhäufung von Photosyntheseprodukten (Atmungssubstrat) zurückgeführt, oder mit einem direkten Einfluß des Lichtes auf den Atmungsprozeß erklärt. Eine Unterscheidung zwischen beiden Möglichkeiten der Lichtwirkung ergibt sich in unserem Fall durch Verwendung des Herbizids 3- (3,4- Dichlorophenyl)- 1,1- dimethylharnstoff (DCMU). Dieses Gift schaltet auf dem Wege über eine Stillegung der O_2-Entwicklung die Photosynthese aus, ohne die Atmung zu beeinflussen (BISHOP 1958).

Der streng selektive Charakter dieser Giftwirkung bei der Konzentration 10^{-5} mol wird dadurch besonders unterstrichen, daß die Algen bei stillgelegter Photosynthese in Gegenwart von DCMU mit organischer Kohlenstoffquelle wachsen können.

Die in Abb. 5 wiedergegebenen Atmungswerte wurden an Zellen ermittelt, die im Unterschied zu der oben angegebenen Versuchseinstellung

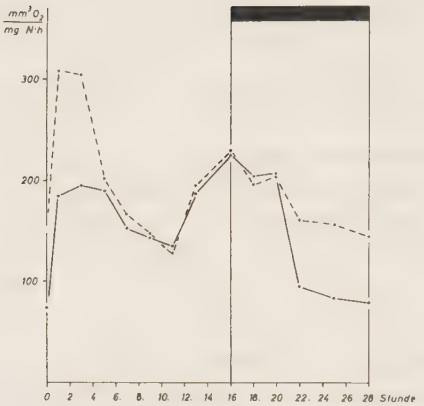


Abb. 5

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b) (Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

O_2- Verbrauch (mm^3/mg Gesamtstickstoff) von Zellen verschiedener Entwicklungsstadien einer autotrophen Kultur nach einstündiger Messung im Dunkeln und im Licht bei ausgeschalteter Photosynthese (DCMU).

—— • —— • —— Atmung im Dunkeln
- - o - - o - - Atmung im Licht

während der Zeit der Atmungsmessung (60 min.) in Gegenwart von DCMU belichtet waren. Ein Vergleich mit Kontrollmessungen der Dunkelatmung zeigt bei den jungen Zellen eine deutliche Steigerung des O_2-Verbrauchs im Licht. Daß diese Steigerung bei den soeben freigesetzten Autosporen (Dunkelzeit 22. Stunde) nicht das gleiche Ausmaß erreicht wie bei den jungen Zellen der ersten Lichtstunden, erklärt sich leicht mit dem verschiedenen Lichtgenuß der Zellen im Atmungsversuch; denn die Suspensionen waren vor Beginn der Lichtzeit (0. Stunde) noch nicht verdünnt worden. Die Atmung der älteren Entwicklungsstadien (von der 9. Stunde bis zum Freiwerden der Tochterzellen) ist in Gegenwart von DCMU vom Licht unbeeinflußt. Da die Dunkelatmung und die Lichtatmung mit DCMU einen ähnlichen Gesamtverlauf zeigen, die Lichtatmung in den jungen Zellen lediglich höhere Werte aufweist, muß man schließen, daß es sich bei dem ersten Maximum der Dunkelatmung im frühen Entwicklungsstadium um die Nachwirkung einer von der photosynthetischen Produktion von Atmungssubstrat unabhängigen Lichtaktivierung handelt, und somit ein stadiengebundener, direkter Lichteffekt vorliegt.

3. Das zweite Maximum

Im Unterschied zu dem ersten Atmungsmaximum ist das im späteren Entwicklungsverlauf der Zellen beobachtete zweite Maximum nicht unmittelbar vom Licht ausgelöst, da die Steigerung ohne eine Änderung im Lichtregime in Gang kommt. Es steht offensichtlich mit der Zellteilung und ihren

Vorbereitungsschritten in engem Zusammenhang. In dieser allgemeinen Formulierung stimmen wir mit RIED, SOEDER u. MÜLLER (1963) überein. Um die Korrelation (und darüber hinaus kausale Beziehungen) zwischen Teilungsvorgängen und Atmung zu erhärten, wird im folgenden versucht, den Teilungsablauf experimentell zu beeinflussen und dabei das Verhalten der Atmung zu beobachten. Eine Verschiebung der Teilungszeit in Synchron-Kulturen durch Außenfaktoren ist allerdings bei dem starken Einfluß eines endogenen Zeitfaktors nur in beschränktem Maße möglich, sofern man nicht Extrembedingungen schafft, z.B. durch Temperaturerniedrigung oder CO_2-Entzug (SENGER 1962), oder auch durch starke Erhöhung des Lichtgenusses der Einzelzellen durch Verdünnung (PIRSON u. RUPPEL 1963). Da jedoch solche Faktoren ihrerseits einen starken Einfluß auf die Atmung haben können, beschränkt sich der folgende Versuch auf eine relativ geringfügige Veränderung in der Teilungszeit.

Verbleibt eine unter den üblichen Bedingungen synchronisierte Kultur von der 16. Stunde an weiter im Licht, wobei der Lichtgenuß durch regelmäßige Verdünnung auf eine bestimmte optische Dichte konstant gehalten wird, so behält sie ihre Synchronisation bei. Die Freisetzung der Autosporen ist in diesem Falle jedoch verzögert (RUPPEL 1962).

Die Atmung einer solchen Kultur (Abb. 6) gleicht der einer normalen bis zum Erreichen des zweiten Maximums. Auf seinem Niveau hält sich nun der O_2-Verbrauch solange, bis die Freisetzung der Autosporen einsetzt, die auch in diesem Falle mit einer Abnahme der Atmung verbunden ist.

Abb. 6

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b)
(Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

O_2-Verbrauch (mm^3/mg Gesamtstickstoff u. Stunde)
von Zellen verschiedener Entwicklungsstadien einer
autotrophen Kultur im Übergang zur Dauerbelichtung.
(zweistündige Verdünnung von der 16. Stunde an)
Die Messung erfolgte im Dunkeln.

II. Gesamtkohlenhydrat und seine Fraktionen

Es war nunmehr zu prüfen, wieweit der Verlauf der am Sauerstoff-Verbrauch gemessenen Dunkelatmung einer Synchron-Kultur von dem in der Zelle vorliegenden Kohlenhydrat bestimmt ist. Für das zweite Maximum kann eine solche Beziehung von vornherein ausgeschlossen werden, da es z.T. in eine Periode abnehmenden Kohlenhydratgehalts fällt. Aber auch für die Lichtzeit (erstes Maximum) ist eine direkte Beziehung nicht gegeben; denn die absolute Menge des Gesamtkohlenhydrats, sowie dessen Anteil am Trockengewicht steigen im Licht kontinuierlich an. Sofern also eine Beziehung zu Kohlenhydrat als Atmungssubstrat besteht, könnte sie sich nur auf eine Einzelfraktion desselben beziehen. Es erwies sich daher als notwendig, die Fraktionen Stärke und lösliche Kohlenhydrate getrennt zu bestimmen, wobei durch Substraktion dieser Fraktionen vom Gesamtkohlenhydrat beiläufig auch Daten für die in der Wand befindlichen Hexosen (bzw. deren Derivate) erhalten wurden.

Aus diesen Befunden (Abb. 7) ergibt sich keine nachweisbare Beziehung zwischen einer Kohlenhydratfraktion und dem Atmungsverlauf. Weder der Anstieg der Atmung im ersten Maximum noch der Abfall bei dem Freiwerden der Autosporen kann mit irgendwelchen Änderungen im Kohlenhydratspiegel erklärt werden. Bemerkenswerterweise enthalten selbst die Autosporen trotz ihres geringen O_2-Verbrauchs noch ca. 5% des Trockengewichts als Stärke.

Das Fehlen einer Beziehung der Atmung zum löslichen Kohlenhydrat gab Veranlassung, diese Fraktion genauer zu prüfen.

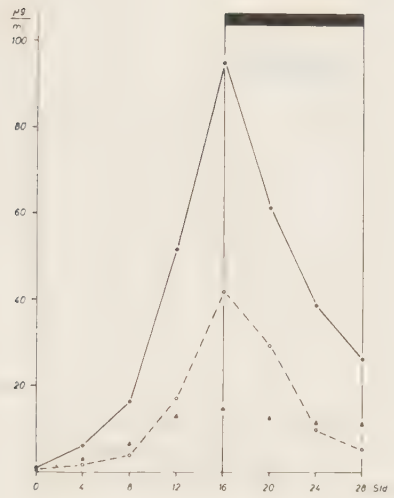


Abb. 7

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidesa (211/8b)
(Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

Verschiedene Kohlenhydratfraktionen einer
autotrophen Kultur (µg/ml Zellsuspension)

—— • —— • —— Stärke

- - o - - o - - lösl. Kohlenhydrate

... ▲ ... ▲ ... Hexosen (bzw. Hexose-Derivate)
der Zellwand

Die chromatographische Analyse der löslichen Kohlenhydrate von freigesetzten Autosporen (28. Stunde) und ausgebildeten Zellen (16. Stunde) ergab, daß Mono- und Disaccharide nicht, oder nur in sehr geringer Menge vorlagen; das gleiche gilt für phosphorylierte Zucker. Ähnliche Beobachtungen an anderen Grünalgen machten BROWN (1948) und CLAUS u. KECK (1959). Die auffällige Erscheinung, daß auch Ketosäuren in Chlorella nur in sehr geringen Mengen zu finden sind (MILLBANK 1957), läßt vermuten, daß diese für den Stoffwechsel wichtigen Substrate einen schnellen Umsatz haben.

Nach Hydrolyse des Extraktes ergab die chromatographische Trennung ausschließlich Glucose. Aus diesen Befunden muß geschlossen werden, daß die löslichen Kohlenhydrate aus Glucosanen niedriger Polymerisationsstufe bestehen.

Im vorliegenden Zusammenhang ist zunächst wichtig, daß größere Reserven unmittelbar veratembarer Kohlenhydrate in der autotrophen Zelle nicht nachgewiesen werden konnten.

III. Glucose-Atmung

Wie im vorigen Abschnitt gezeigt, verfügen die Chlorella-Zellen in jedem Entwicklungsstadium über Reserven an Stärke bzw. Glucosanen, besitzen aber keinen Vorrat an direkt veratembarem Material (freie Glucose bzw. Glucosephosphate).

Es wurde nunmehr versucht, dieses Defizit durch Zufuhr von Glucose aufzuheben.

In Abb. 8 ist der O_2-Verbrauch von Zellen einer synchronen Chlorella-Kultur wiedergegeben, denen

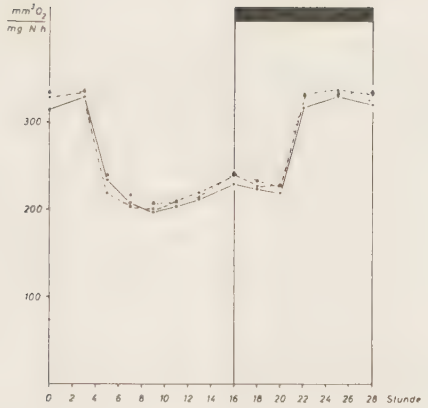


Abb. 8

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b) (Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

O_2-Verbrauch (mm^3/mg Gesamtstickstoff) von Zellen verschiedener Entwicklungsstadien einer autotrophen Kultur mit Glucose-Zusatz vor Beginn der einstündigen Messung im Dunkeln und von Zellen einer im Glucose-Medium angezogenen Kultur.

—— • —— • —— Glucose-Zusatz (1 %) vor Beginn der Messung

... ▲ ... ▲ ... Glucose-Zusatz (0,05%) vor Beginn der Messung

- - o - - o - - Anzucht in Glucose (1%)

Glucose in 1% bzw. 0,05%iger Konzentration unmittelbar vor Beginn der Atmungsmessung oder in 1%iger Konzentration schon bei der Anzucht zugegeben war.

In diesen drei Fällen ergibt sich ein annähernd gleichartiger Kurvenverlauf, der von demjenigen der endogenen Atmung grundsätzlich verschieden ist. Während im Entwicklungszyklus autotropher Zellen die endogene Atmung der Autosporen die niedrigsten Werte aufweist, haben die mit Glucose versorgten Zellen im gleichen Stadium den höchsten O_2-Verbrauch. Diesem Maximum in den jungen Zellen bis zum Stadium der 3. Stunde folgt ein ausgedehntes Minimum bis zum Beginn der Autosporenfreisetzung. Erst nachdem die Tochterzellen frei geworden sind, erreicht die Atmung wieder ihre Höchstwerte. Während Glucose-Zusatz den O_2-Verbrauch von Autosporen um ca. 425% fördert, beträgt der Unterschied zwischen Glucose-Atmung und endogener Atmung bei Zellen des Entwicklungsstadiums der 5. Stunde nur ca. 25%. In dieser Entwicklungsphase führt der Anstieg der endogenen Atmung zu einer Annäherung der beiden Kurven (Abb. 9). Im Bereich des zweiten Maximums der endogenen Atmung werden die Unterschiede nahezu ausgeglichen (Differenz zwischen endogener und Glucose-Atmung ca. 10%); hier liegt allerdings insofern eine andere Situation vor, als die Glucose-Atmung bereits erheblich abgesunken ist und auch durch Erhöhung der Zuckerkonzentration im Medium nicht gesteigert werden kann. Es fragt sich daher, ob in diesen späteren Entwicklungsstadien die Fähigkeit zur Aufnahme von Glucose eingeschränkt oder die Kapazität der respiratorischen Enzyme herabgesetzt ist.

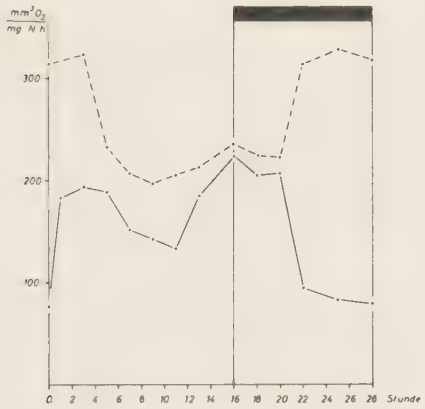


Abb. 9

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b)
(Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

O_2-Verbrauch (mm3/mg Gesamtstickstoff) von Zellen verschiedener Entwicklungsstadien einer autotrophen Kultur mit und ohne Glucose-Zusatz (1%) vor Beginn der einstündigen Messung im Dunkeln.

—— • —— • —— endogene Atmung
- - o - - o - - Glucose-Atmung

IV. Kohlenhydratspeicherung bei Ernährung mit Glucose

Zur näheren Untersuchung dieser Frage wurde in Synchron-Kulturen mit und ohne äußere Zucker-Zufuhr der Kohlenhydratgehalt bestimmt. In einer Kultur mit 1% Glucose steigt der Kohlenhydratgehalt gegenüber einer autotrophen Parallele während der Lichtzeit auf das Doppelte an (Abb. 10). Die Fähigkeit der Zellen, über den unmittelbaren Bedarf von Atmung und Baustoffwechsel hinaus Kohlenhydrate zu speichern, schließt in dieser Phase eine Begrenzung des O_2-Verbrauchs durch die Glucose-Aufnahme aus. Wenn dagegen von Beginn der Dunkelzeit an der Kohlenhydratgehalt trotz der Anwesenheit von Glucose im Außenmedium abfällt, so muß man schließen, daß nunmehr die Glucose-Aufnahme eingeschränkt wird; in dieser Phase verhalten sich die Zellen auch in Gegenwart von Glucose nicht wesentlich anders als bei rein autotropher Ernährung.

Die relativ niedrige Glucose-Atmung muß man hier offensichtlich auf eine Aktivitätsverminderung des Enzymapparats zurückführen.

Sobald die Autosporenfreisetzung in Gang kommt, ändert sich die Situation schlagartig. Nunmehr werden Kohlenhydrate außerordentlich stark gespeichert, was natürlich eine ungehinderte Glucose-Aufnahme voraussetzt. Diese intensive Aufnahme von Glucose äußert sich nicht nur in der Speicherung von Kohlenhydraten, sondern auch in dem am Stickstoffgehalt ablesbaren Baustoffwechsel (Abb. 11). Die Nitratassimilation wird unter Verwertung der zugesetzten Glucose vom Zeitpunkt der Autosporenfreisetzung an

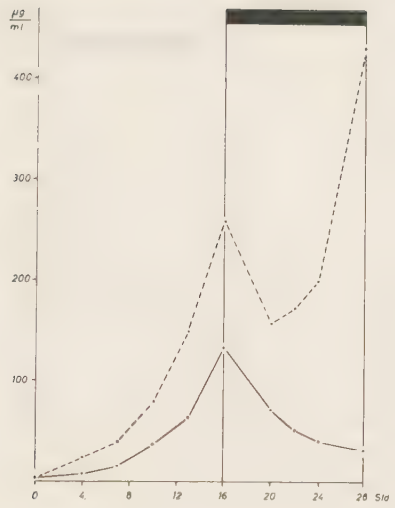


Abb. 10

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b) (Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

Gesamt-Kohlenhydratgehalt (µg/ml Zellsuspension) von Anzuchten in normaler und glucose-haltiger Nährlösung (1%).

—— • —— • —— Anzucht ohne Glucose

- - o - - o - - Anzucht mit Glucose

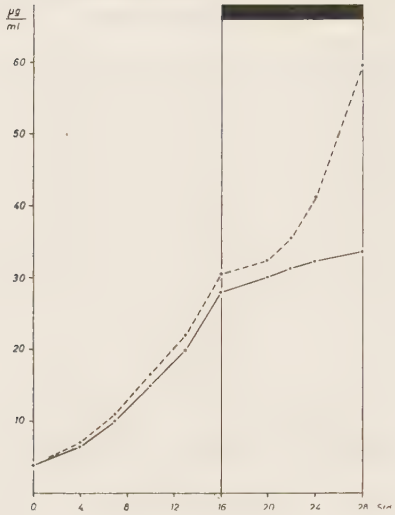


Abb. 11

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b)
(Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

Gesamtstickstoffgehalt (µg/ml Zellsuspension)
von Anzuchten in normaler und glucose-haltiger
Nährlösung (1%).

—— • —— • —— Anzucht ohne Glucose

- - o - - o - - Anzucht mit Glucose

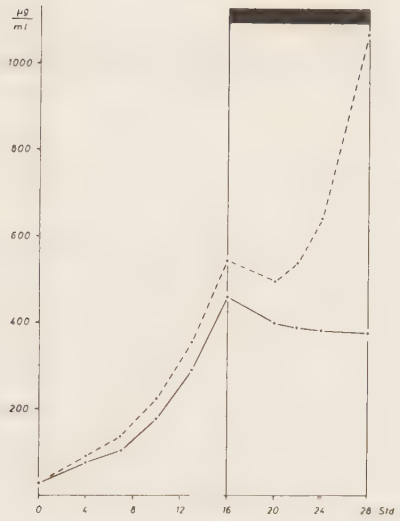


Abb. 12

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b) (Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

Trockengewicht (µg/ml Zellsuspension) von Anzuchten in normaler und glucose-haltiger Nährlösung (1%).

—— • —— • —— Anzucht ohne Glucose

- - o - - o - - Anzucht mit Glucose

wesentlich gefördert. Grundsätzlich das gleiche zeigt auch der Trockengewichtsverlauf (Abb. 12).

V. Glucose-Aufnahme

Nachdem durch analytische Bestimmungen ein Einblick in den intrazellulären Kohlenhydrat-Haushalt gewonnen war, erschien es sinnvoll, nunmehr auch die Aufnahme der Glucose durch autotroph angezogene Zellen während ihres Licht-Dunkel-Zyklus zu untersuchen. Bei diesen Versuchen wurde eine Glucose-Konzentration von 0,025% und eine Aufnahmezeit von einer Stunde gewählt; der Entwicklungszustand ändert sich in dieser Zeit nicht grundlegend. In Abb. 13 sind zunächst die Absolutwerte der Glucose-Aufnahme aufgetragen. Trotz Vermehrung von Zellsubstanz und Zellvolumen um ein Vielfaches bleibt die Aufnahme bis zum Ende der Zellentwicklung nahezu gleich, steigt dann aber sprunghaft an, sobald die Autosporen frei werden. In Abb. 13 ist zugleich der Glucose-Schwund auf den jeweiligen Zellstickstoff bezogen, wodurch der Einfluß des Wachstums auf die Glucose-Aufnahme eliminiert wird. (Auch die Atmungswerte in Abb. 2 sind auf den Gesamt-Stickstoff bezogen.) Das ausgeprägte Minimum der auf Stickstoff bezogenen Glucose-Aufnahme in der 20. Stunde fällt mit der Phase des Absinkens im Kohlenhydrat zusammen, die bei einer im Glucose-Medium angezogenen Kultur beobachtet wurde (Abb. 10).

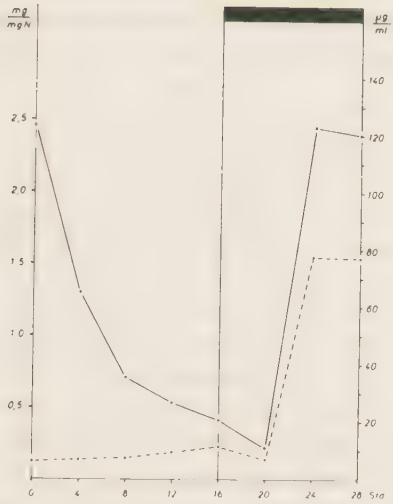


Abb. 13

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b)
(Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

Glucose-Aufnahme von Zellen einzelner Entwicklungsstadien, gemessen an der Abnahme des Glucose-Gehaltes der Nährlösung (1%) nach einer einstündigen Inkubation im Dunkeln.

—— • —— • —— mg/mg Gesamtstickstoff
- - o - - o - - µg/ml Zellsuspension

VI. Veränderungen des O_2-Verbrauchs von Zellen verschiedener Entwicklungsstadien innerhalb der ersten Stunde nach Entnahme aus der Kultur

Eine weitere Möglichkeit, die Faktoren zu erfassen, welche die Atmungsintensität begrenzen, ergibt sich aus der Änderung des O_2-Verbrauchs von Zellen der einzelnen Entwicklungsstadien innerhalb der ersten Stunde nach Entnahme aus der Kultur. Hier treten bei endogener Atmung und Glucose-Atmung z.T. erhebliche Unterschiede auf. Diese stehen im Zusammenhang mit der absoluten Höhe von endogener Atmung und Glucose-Atmung, sowie auch mit der Differenz zwischen beiden (Abb. 14). Die Glucose-Atmung ist in allen Fällen während der Versuchszeit konstant. Ihre absolute Höhe nimmt jedoch im Laufe der Zellentwicklung ab. Die nach Abb. 9 zu erwartenden Befunde lassen sich damit deuten, daß durch Zusatz von Glucose die Kapazität der respiratorischen Enzyme sowohl im Bereich hoher Glucose-Atmung als auch in den Phasen geringerer Aktivität voll ausgenutzt wird, da eine Begrenzung durch die Glucose-Aufnahme ausgeschlossen werden kann; dies gilt nur mit Einschränkung für die älteren, teilungsbereiten Zellen, bei denen der Glucose-Eintritt stark gedrosselt ist.

Im Unterschied zur Glucose-Atmung bleibt die endogene Atmung nur in den älteren Stadien (d.h. im Bereich des 2.Maximums) konstant. Da in diesen Zellen die Differenz von endogener und Glucose-Atmung nahezu aufgehoben ist, muß angenommen werden, daß hier das respiratorische Enzymsystem der endogenen Atmung infolge Mobili-

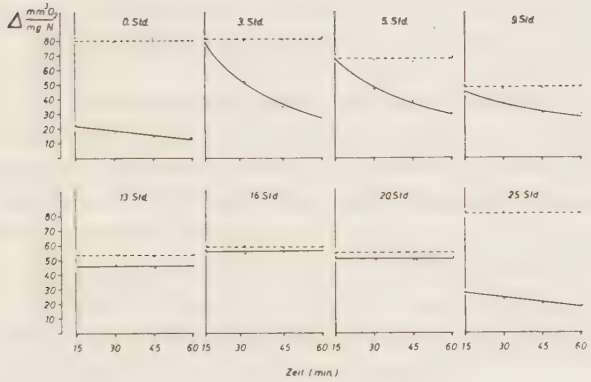


Abb. 14

Synchron-Kultur von Chlorella pyrenoidosa (211/8b) (Licht-Dunkel-Wechsel 16:$\overline{12}$, 9000 Lux, 30°C)

Änderungen des O_2-Verbrauchs von Zellen verschiedener Entwicklungsstadien einer autotrophen Kultur innerhalb der ersten Stunde nach Entnahme aus der Kultur.

- - - - - - - - - - - - - - mit Glucose-Zusatz (1%) vor Beginn der Messung

———————————— ohne Glucose-Zusatz

sierung der Reserven (bzw. direkte Nutzung der Photosyntheseprodukte) voll in Anspruch genommen ist.

Anders verhält sich die endogene Atmung der jungen Zellen in den ersten Stunden der Lichtzeit. Hier fällt der O_2-Verbrauch, der zunächst die Höhe der Glucose-Atmung erreicht hatte, während der einstündigen Messung rasch ab. Der Vergleich mit der Glucose-Atmung zeigt, daß dieser Abfall nicht auf eine verminderte Leistung der Atmungsenzyme, sondern auf den Verbrauch des verfügbaren Substrats zurückzuführen ist. Während also in den jungen Zellen die Substratlieferung ausreichend ist, gilt dies nicht für die älteren Zellen; hier kann sie jedoch durch Licht aktiviert werden, so daß man den Abfall der endogenen Atmung während der einstündigen Messung als das Ausklingen einer Lichtaktivierung ansehen kann.

Die in Abb. 14 zusammengefaßten Befunde stützen somit die zuvor gewonnenen Vorstellungen von den die Atmungsvorgänge begrenzenden Faktoren.

C. DISKUSSION

Allen bisher vorliegenden Messungen der endogenen Atmung an synchronisiertem Zellmaterial ist gemeinsam, daß die freigesetzten Autosporen die niedrigsten Werte aufweisen.

Bei dem in der Frühentwicklung der Zellen beobachtbaren Anstieg weichen die Angaben quantitativ erheblich voneinander ab. Auch die Angaben über den Atmungsverlauf der späteren Zellentwicklung sind sehr uneinheitlich.

Eine diesbezügliche Diskussion bei RIED, SOEDER u. MÜLLER (1963) kennzeichnet die Schwierigkeiten, die bei der vergleichenden Bewertung von Daten unterschiedlicher Herkunft bestehen.

Für eine Erklärung von Schwankungen der endogenen Atmung sind folgende Möglichkeiten einer Regulation in Betracht zu ziehen:

1. die Verfügbarkeit von Phosphatakzeptoren,
2. die Leistungsfähigkeit des respiratorischen Enzymsystems,
3. der Substratspiegel.

Nach allgemein anerkannter Hypothese kann die Atmung durch den intrazellulären Gehalt an Phosphatakzeptoren (ADP) kontrolliert sein (vgl. HACKETT 1959). Diese Annahme ist aus Versuchen an Mitochondrien-Präparaten abgeleitet; doch liegt bei intakten Pflanzenzellen kein direkter Nachweis für diese Möglichkeit vor. Lediglich Versuche mit Entkopplergiften wurden als Stütze für das Vorliegen dieses Regulationsprinzips auch in vivo herangezogen (BEEVERS 1953,

HACKETT 1959). Im gleichen Sinne nehmen RIED, MÜLLER u. SOEDER (1962) an, daß die nur in jungen Zellen beobachtbare Steigerung der Atmung durch DNP einen Mangel an ADP anzeigt.

Wie jedoch enzymatische Bestimmungen der Adenin-Nucleotide synchronisierter Chlorellen zeigten, dürfte den Zellen genügend ADP zur Verfügung stehen. Solche Bestimmungen wurden von GALLING mit anderen Methoden (Trennung über Austauscherharze) bestätigt und erweitert. Tab. 1 (GALLING, unveröffentlicht) zeigt, daß gerade die Autosporen (mit dem niedrigsten O_2-Verbrauch) den höchsten ADP-Gehalt aufweisen.

	0. Std.	10. Std.	14. Std.	24. Std.
AMP	197	197	165	197
ADP	189	48	50	189
ATP	144	13	0	144

Werte in µg/1000 ml

Eine Begrenzung der Atmung durch Mangel an Phosphatekzeptoren kann folglich in unserem Falle ausgeschlossen werden.

Zur Entscheidung der Frage, inwieweit das respiratorische Enzymsystem den Gang der Atmung bestimmt, wurden Vergleichsversuche über das Verhalten der Glucose-Atmung herangezogen. Dabei setzten wir voraus, daß endogene Atmung und Glucose-Atmung mit gemeinsamem Enzymsystem am gleichen Ort in der Zelle lokalisiert sind.

Ebensowenig wie die endogene Atmung bleibt die Glucose-Atmung während der Zellentwicklung konstant (vgl.NIHEI et al., RIED, SOEDER u. MÜLLER 1963, SOROKIN u.MYERS 1957). Für die beobachteten

Leistungsschwankungen könnte hier neben den einschlägigen Enzymen auch die Aufnahme maßgeblich sein (MILLBANK 1957, DANFORTH 1953).

Wie die Messung der kurzfristigen Glucose-Aufnahme im Dunkeln zeigte, besteht zwar in den einzelnen Entwicklungsstadien eine unterschiedliche Permeation; da jedoch in der meisten Zeit über den Bedarf der Atmung hinaus Glucose zu Stärke polymerisiert wird, kann man schließen, daß die Aufnahme selbst nicht der begrenzende Faktor ist. Eine Ausnahme bilden möglicherweise die teilungsbereiten Zellen vom Beginn der Verdunklung bis zur Freisetzung der Autosporen. In diesen Stadien sinkt der Kohlenhydratgehalt ab, d.h. die Glucose-Aufnahme ist soweit gedrosselt, daß die Atmung von den gespeicherten Reserven zehrt.

Inwieweit die unterschiedliche Glucose-Aufnahme auf aktiver Regulation beruht oder von Struktureigenschaften der Zellgrenzflächen bestimmt ist, kann nicht entschieden werden. Eine Vergrößerung der Zelloberfläche beim Freiwerden der Autosporen kann für die Steigerung der Glucose-Aufnahme allein nicht verantwortlich sein.

Berechnung der Zelloberfläche von reifen Zellen kurz vor ihrer Teilung und von freigesetzten Autosporen ergaben ein Verhältnis von etwa 1:5, die Steigerung der Glucose-Aufnahme dagegen beträgt das 7 - 8 fache.

Abgesehen vom Stadium der Autosporenmutterzellen, steht den mit Glucose versorgten Zellen während der übrigen Entwicklung genügend Substrat zur Verfügung. Die erheblichen Schwankungen des O_2-Verbrauchs müssen daher auf der unterschiedlichen Leistungsfähigkeit respiratorischer Enzyme beruhen. Für Aktivitätsschwankungen einzelner

Enzyme oder Enzymsysteme liegen bereits Beispiele an Synchronkulturen von Hefe (SYLVEN u. TOBIAS 1958) und Tetrahymena (NISHI u. SHERBAUM 1962) vor.

Ein Vergleich mit der endogenen Atmung zeigt nun, daß diese in ihren Maxima nahe an die Leistung der Glucose-Atmung herankommt. Ihre Schwankungen lassen sich daher nicht mit der Aktivität von Atmungsenzymen korrelieren, sondern deuten auf eine begrenzende Wirkung der Substratversorgung hin. Obwohl die Zellen in allen Entwicklungsstadien Kohlenhydrate in Form von löslichen Polysacchariden und Stärke enthalten, sind sie offenbar nicht zu jeder Zeit in der Lage, sich dieser Reserven zu bedienen. Aus den vorangegangenen Feststellungen kann daher geschlossen werden, daß die endogene Atmung einer Synchronkultur von Chlorella über die Aktivität der polysaccharidabbauenden Enzyme gesteuert wird. Das Atmungsmaximum in jungen Zellen ist dabei durch eine direkte Lichtaktivierung dieser Enzyme bedingt, während das zweite Maximum in den teilungsbereiten Zellen auf einer entsprechenden lichtunabhängigen Aktivierung beruhen muß. Solche direkten Lichteffekte auf die Atmung bzw. einzelner Enzyme sind schon mehrfach berichtet worden (VAN DER PAAUW 1932, PARIJA u. RANJAN 1934, BODE 1941, DAVIS 1950). Auch über eine Stimulierung von stärkespaltenden Enzymen liegen ältere Arbeiten vor (COLLIER u. WASTENEYS 1932, PARIJA u. SARAN 1934). Die schon häufig gemachte Beobachtung einer erhöhten Atmung nach vorausgegangener Photosynthese wurde bisher immer auf eine Vermehrte Substratlieferung zurückgeführt (FÖCKLER 1939, KOK 1952, BRACKETT, OLSEN u. CRICKARD 1953, BASSHAM et al. 1955).

Wenn auch bei der endogenen Dunkelatmung junger Chlorellen die Lieferung zusätzlichen Substrats durch die vorausgegangene Photosynthese mitspielen kann, so ist doch die Beteiligung einer direkten Lichtwirkung auf die Mobilisierung von Kohlenhydrat-Reserven nach unseren Beobachtungen (insbesondere den Versuchen mit DCMU) nicht in Zweifel zu ziehen.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die endogene Atmung einer im Licht-Dunkel-Wechsel 16 : 12 synchronisierten Kultur von Chlorella (Chlorella pyrenoidosa Nr. 211/8b der Algensammlung Göttingen) weist während der Zellentwicklung zwei Maxima und zwei Minima auf.

2. Der Atmungsanstieg der Autosporen zum ersten Maximum ist direkt von der vorhergehenden Belichtung, jedoch nicht von der Photosynthese abhängig. Bei ausgeschalteter Photosynthese (DCMU) ist bei diesen Zellen eine Steigerung der Atmung auch im Licht nachzuweisen. Vergleichsversuche an älteren Entwicklungsstadien lassen keinen solchen Lichteinfluß erkennen.

3. Das zweite Maximum ist ausschließlich vom Entwicklungsstadium bestimmt. Es fällt mit den die Zellteilung vorbereitenden Schritten zusammen.

4. In keinem Entwicklungsstadium ist die Atmung durch den Gehalt an polymeren Reserve-Kohlenhydraten begrenzt. Unter den löslichen Kohlenhydraten wurden niemals freie und phosphorylierte Zucker in größerer Menge beobachtet.

5. Die Glucose-Atmung (exogene Atmung) zeigt einen von der endogenen Atmung grundsätzlich verschiedenen Verlauf. Ihrem Maximalwert bei den Autosporen folgt ein ausgedehntes Minimum bis zum Ende der Zellentwicklung. Im Bereich ihrer beiden Maxima kommt die endogene Atmung der Glucose-Atmung nahe.

6. Die wachsenden Zellen einer Synchron-Kultur in glucosehaltiger Nährlösung speichern im Licht Kohlenhydrate aus dem Medium. In ausgewachsenen, teilungsbereiten Zellen ist dagegen die Aufnahme der Glucose stark herabgesetzt. Bei Freisetzung der Autosporen (im Dunkeln) setzt mit der Atmungssteigerung intensive Aufnahme und Verarbeitung von Glucose ein.

7. Aus den Versuchsdaten werden folgende Schlüsse gezogen:

a. Die Höhe der Glucose-Atmung wird vom Entwicklungszustand der Zellen bestimmt. Dabei ist in erster Linie die Aktivität des respiratorischen Enzymsystems maßgebend; in den reifen Zellen kommt eine Hemmung der Glucose-Aufnahme hinzu.

b. Die endogene Atmung ist in ihrem Verlauf abhängig von der Belieferung mit Atmungssubstrat aus gespeicherten Kohlenhydrat-Reserven. Die einschlägigen Enzymsysteme werden in jungen Zellen vom Licht aktiviert (1. Maximum), in den reifen Zellen (2. Maximum) ist die Aktivierung lichtunabhängig.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

BASSHAM, J.A., K. SHIBITA and M. CALVIN: Quantum requirement in photosynthesis related to respiration. Biochim. Biophys. Acta 17, 332-340 61955).

BEEVERS, H.: 2,4- dinitrophenol and plant respiration. Am. J. Bot. 40, 91-96 (1953).

BISHOP, N.J.: The influence of the herbicide, DCMU, on the oxygen-evolving system of photosynthesis. Biochim. Biophys. Acta 27, 205-206 (1958).

BROWN, A.H.: The carbohydrate constituents of Scenedesmus in relation to the assimilation of carbon by photoreduction. Plant Physiol. 23, 331-337 (1948).

BODE, O.: Assimilation, Atmung und Plastidenfarbstoffe in verschiedenfarbigem Licht aufgezogener Fontinalispflanzen. Jb. Wiss. Bot. 89, 208-244 (1941).

BRACKETT, F.S., R.A. OLSON and R.G. CRICKARD: Respiration and intensity dependence of photosynthesis in Chlorella. J. Gen. Physiol. 36 529-561 (1953).

CLAUS, H. und K. KECK: Über die löslichen Kohlenhydrate der Grünalge Acetabularia mediterranea und deren quantitative Veränderungen in kernhaltigen und kernlosen Teilen. Planta 52, 543-553 (1958/59).

COLLIER, H.B. and H. WASTENEYS: The action of radiation on enzymes. Jour. Exp. Biol. & Med. Sci. 9, 89-112 (1932).

DAMASCHKE, K., L. ROTBÜHR, F. TÖDT: Photosynthese unter anaeroben Bedingungen. Z. Naturforsch. 10b, 572 (1955).

DANFORTH, W.? Oxydative metabolism in Euglena. Arch. Biochem. Biophys. 46, 164-173 (1953).

DAVIS, E.A.: Likelihood of photorespiration or light induced respiration in green plants. Science 112, 113-115 (1950).

EMERSON, R.: The effect of certain respiratory inhibitors on the respiration of Chlorella. J. Gen. Physiol. 10, 469-477 (1927).

EMERSON, R. and C.M. LEWIS: The dependence of the quantum yield of Chlorella photosynthesis on wavelength of the light. Am. J. Bot. 30, 165-178 (1943).

FÖCKLER, H.: Über den Einfluß des Lichtes auf die Atmung farbloser und assimilierender Gewebe und seine Rolle beim "funktionellen Sonnenstich". Jb. wiss. Bot. 87, 45-90 (1939).

GALLING, G.: (unveröffentlicht)

GENEVOIS, L.: Über Atmung und Gärung in grünen Pflanzen. Biochem.Z. 186, 461-473 (1927).

HACKETT, D.P.: Respiratory mechanism in higher plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 10, 113-146 (1959).

HANES, C.S. and F.A. ISHERWOOD: Separation of the phosphoric esters on the filter chromatograms. Nature 164, 1107 (1949).

HUGGET, A.St. and D.A. NIXON: Enzymatic determination of blood glucose. Biochem. J. 66, 12P (1957).

KANDLER, O.: Über die Beziehung zwischen Phosphathaushalt und Photosynthese I. Z.Naturforsch. 5b, 423-437 (1950).

KOK, B.: On the efficiency of Chlorella growth. Acta bot. Neerl. 1, 445-467 (1952).

KOWALLIK, W.: Über die Wirkung des blauen und roten Spektralbereichs auf die Zusammensetzung und Zellteilung synchronisierter Chlorellen. Planta 58, 337-365 (1962).

KUHL, A.: Zur Physiologie der Speicherung kodenssierter anorganischer Phosphate in Chlorella. In "Vorträge aus dem Gesamtgebiet der Botanik", hrsg. Dtsch. bot. Ges., Neue Folge Nr. 1, 157-166 (1962).

LINSKENS, H.F. (Herausgeb.) Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955.

LORENZEN, H.: Synchrone Zellteilungen von Chlorella bei verschiedenen Licht-Dunkel-Wechseln. Flora 144, 473-496 (1957).

Die photosynthetische Sauerstoffproduktion wachsender Chlorella bei langfristig intermittierender Belichtung. Flora 147, 382-404 (1959).

LORENZEN, H. u. H.G. RUPPEL: Versuche zur Gliederung des Entwicklungsverlaufs der Chlorella-Zelle. Planta 54, 394-403 (1960).

MILLBANK, J.W.: Ketoacids in the alga Chlorella. Ann. Bot. 21, 21-32 (1957).

Studies on the preparation of a respiratory cell-free extract from the alga Chlorella. J. exp. Bot. 8 96-104 (1957).

MOTHES, K., I. BAATZ u. H. SAGROMSKY: Die Bedeutung der Carotinoide für die Lichtausnutzung bei der Photosynthese. Planta 30, 289-293 (1939).

NIHEI, T., T. SASA, S. MIYACHI, K. SUZUKI and H. TAMIYIA: Change of photosynthetic activity of Chlorella cells during the course of their normal life cycle. Arch. Mikrobiol. 21, 156-166 (1954).

NISHI, A. and O.H. SCHERBAUM: Oxydative phosphorylation in synchronized cultures of Tetrahymena pyriformis. Biochim. Biophys. Acta 65, 419-424 (1962).

PARIJA, P. and A.B. SARAN: The effect of light on the respiration of starved leaves. Ann. Bot. 48, 347-354 (1934).

PAAUW, T. van der: The indirect action of external factors on photosynthesis. Rec. Trav. bot. neerl. 29, 497-620 (1932).

PETERING, H.G., B.M. DUGGAR and F. DANIELS: Quantum efficiency of photosynthesis in Chlorella. J. Am. chem. Soc. 61, 3525-3529 (1939).

PIRSON und H.G. RUPPEL: Über die Induktion einer Teilungshemmung in synchronen Kulturen von Chlorella. Arch. Mikrobiol. 42, 299-309 (1962).

RIED, A., I. MÜLLER und C.J. SOEDER: Wirkung von Stoffwechselinhibitoren auf den respiratorischen Gaswechsel verschiedener Entwicklungsstadien von Chlorella pyrenoidosa. In "Vorträge aus dem Gesamtgebiet der Botanik", herausg. Dtsch. Bot.Ges., Neue Folge Nr. 1, 187-194 (1962).

RIED, A., C.J. SOEDER und I. MÜLLER: Über die Atmung synchron kultivierter Chlorella I. Veränderungen des respiratorischen Gaswechsels im Laufe des Entwicklungscyclus. Arch. Mikrobiol. 45, 343-358 (1963).

RUPPEL, H.G.: Untersuchungen über die Zusammensetzung von Chlorella bei Synchronisation im Licht-Dunkel-Wechsel. Flora 152, 113-138 (1962).

ROE, J.H.: The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. J. Biol. Chem. 212, 335-343 (1955).

SENGER, H.: Untersuchungen zur Synchronisation von Chlorella-Kulturen. Arch. Mikrobiol. 40, 47-72 (1961).

SOROKIN, C. and J. MYERS: The course of respiration during the life cycle of Chlorella cells. J.Gen. Physiol. 40, 579-592 (1957).

SYLVEN, B. and C.A. TOBIAS: Cyclic variations in the peptidase and proteinase activity of growing yeast, synchronized with respect to cell multiplication. ref. 4. Int. Cong. Biochem. Wien 1958.

TAYLOR, P.J.: The absorption of D-glucose by Scenedesmus quadricauda I u. II. Proc. Roy. Soc. B 151, 400-418 und 483-495 (1960).

TÖDT, F.: Elektrochemische Sauerstoffmessungen. Konzentrationsmessungen oxydierender und reducierender Stoffe durch galvanische Modellelemente, Berlin 1958.

ULRICH, W.: Dissertation Göttingen 1963.

WATANABE, A.: Über die Beeinflussung der Atmung von einigen grünen Algen durch Kaliumcyanid und Methylenblau. Beiträge zur Stoffwechselpsychologie der Algen I. Acta Phytochim. 6, 315-335 (1932).

Lebenslauf

Am 21. April 1936 wurde ich als Sohn des Ingenieurs Franz Wolf und seiner Ehefrau Änne, geb. Bardeleben in Kassel geboren.

Nach vierjähriger Volksschulzeit in Kassel und Kleinern/ Waldeck wurde ich im Herbst 1946 in das Realgymnasium für Jungen Bad Wildungen aufgenommen. Dort legte ich im März 1956 die Reifeprüfung ab. Vom Sommersemester 1956 an studierte ich in Marburg, Bonn und Göttingen die Fächer Biologie, Chemie und Geographie.

Mit den Arbeiten zur vorliegenden Dissertation unter Leitung von Herrn Professor Dr. A.Pirson begann ich im Herbst 1960.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten: Beermann, Birukow, Czajka, Dimroth, Firbas, Fischer, Heidermanns, Helfrich, Kessel, Lehmensick, Mortensen, Piepho, Pirson, Poser, Schmitz-Du Mont, Seidel und Walcher.